

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 20 日現在

機関番号：32659

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2013

課題番号：24790295

研究課題名(和文)皮膚、腫瘍組織内の異種細胞間相互作用におけるイノシトールリン脂質代謝系の機能解析

研究課題名(英文)The role of phosphoinositide metabolism in the interaction of different cell types in skin and tumor

研究代表者

中村 由和 (Nakamura, Yoshikazu)

東京薬科大学・生命科学部・講師

研究者番号：60366416

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円、(間接経費) 1,020,000円

研究成果の概要(和文)：皮膚の正常な機能は異種細胞間のコミュニケーションにより維持されている。本研究においてイノシトールリン脂質代謝系を制御する酵素であるホスホリパーゼC (PLC)  $\delta 1$ を表皮ケラチノサイトで欠損させたマウス(PLC  $\delta 1$  KOマウス)の皮膚環境はインターロイキン-23等のサイトカイン産生亢進など腫瘍組織と一部類似していることを明らかにした。またPLC  $\delta 1$  KOマウスの皮膚へB16-F10メラノーマ細胞を移植した際に腫瘍サイズ増大やリンパ節転移の促進が観察されることが判明した。

研究成果の概要(英文)：The interaction of different cell types is important in the maintenance of skin functions. We found that epidermal loss of phospholipase c (PLC)  $\delta 1$  upregulated interleukin-23 and generated partially similar environment to tumor microenvironment. We also found that subcutaneous injection of B16-F10 cells into keratinocyte-specific PLC  $\delta 1$  knockout mice enhanced the growth and metastasis of B16-F10 cells.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学&#8226;医化学一般

キーワード：ホスホリパーゼC

## 1. 研究開始当初の背景

生体内の組織の機能は異種の細胞間の複雑な相互作用により制御されている。皮膚の正常な機能にも異種細胞間のコミュニケーションが重要である。皮膚には表皮を構成するケラチノサイトに加え、線維芽細胞、免疫細胞、血管、リンパ管や様々な種類の細胞外基質からなる真皮の皮膚間質が存在し、ケラチノサイトと皮膚間質の細胞との間で多種多様な相互作用が見られる。イノシトールリン脂質代謝系を制御する酵素、ホスホリパーゼC(PLC)の一つである PLC $\delta$ 1 をケラチノサイト特異的に欠損したマウス (PLC $\delta$ 1cK0 マウス)の皮膚では真皮線維芽細胞の増殖や白血球の浸潤、血管形成の亢進など、腫瘍組織と一部類似した現象が観察された。しかしながら PLC $\delta$ 1 を欠損したケラチノサイトの単一培養系においてはケラチノサイト自体に目立った異常は観察されず、皮膚環境内におけるケラチノサイトと皮膚間質細胞間のクロストークに PLC $\delta$ 1 が関与している可能性が示唆されていた。

## 2. 研究の目的

前述のようにケラチノサイトで PLC $\delta$ 1 を欠損した皮膚は腫瘍間質に一部類似した状態になっていた。そこで本研究では異種細胞間相互作用に着目し、皮膚と腫瘍組織の類似性について解析を進めることを目的とした。具体的には、ケラチノサイトにおける PLC $\delta$ 1 の欠損により作り出される皮膚環境がどの程度、腫瘍組織に類似しているのかについて遺伝子発現の比較により検討を行う。またケラチノサイトにおける PLC $\delta$ 1 の欠損により作り出される皮膚環境が B16-F10 メラノーマ細胞の転移性に与える影響を明らかにすることも試みた。

## 3. 研究の方法

(1) ケラチノサイトで PLC $\delta$ 1 を欠損したマ

ウス(PLC $\delta$ 1cK0 マウス)皮膚の遺伝子発現をサイトカインを中心に検討し腫瘍組織との類似性の有無を調べた。(2) PLC $\delta$ 1cK0 マウスの皮膚内で移植癌細胞の転移が亢進するかをリンパ節転移を指標に検討した。

## 4. 研究成果

(1) PLC $\delta$ 1cK0 マウスの皮膚では異種細胞間相互作用に依存したインターロイキン (IL)-23、IL-17 の増加が見られる。

PLC $\delta$ 1cK0 マウスの皮膚における遺伝子発現をサイトカイン群を中心に検討したところ IL-23 と IL-17 の増加が観察された。PLC $\delta$ 1cK0 マウスの皮膚を用いた免疫組織染色の結果、IL-23 は表皮ケラチノサイトで強い染色性が見られたものの、PLC $\delta$ 1cK0 マウス表皮ケラチノサイトの単独培養では IL-23 の増加は観察されず、ケラチノサイトにおける PLC $\delta$ 1 の欠損は皮膚内の異種細胞間相互作用を乱すことによりケラチノサイトからの IL-23 産生増加を促していることが強く示唆された。また、IL-23 や IL-17 は腫瘍組織において産生増加が見られるという報告があるため、サイトカイン発現という点において PLC $\delta$ 1cK0 マウス皮膚と腫瘍組織が類似していると考えられた。

(2) PLC $\delta$ 1cK0 マウスの皮膚へのメラノーマ移植時にはリンパ節転移が観察される

PLC $\delta$ 1cK0 マウスの皮膚へ B16-F10 メラノーマを移植した際に、所属リンパ節への転移が観察された。これに対し、野生型マウスの皮膚へ同様に B16-F10 メラノーマを移植した際には所属リンパ節転移は見られなかった。このことから PLC $\delta$ 1cK0 マウスの皮膚環境はメラノーマ転移を促進することが強く示唆された。

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 5 件)

1. Nakamura, Y., Kanemaru, K., Kojima, R., Hashimoto, Y., Marunouchi, T., Oka, N., Ogura, T., Tanonaka, K., and Fukami, K. Simultaneous loss of phospholipase C $\delta$ 1 and phospholipase C $\delta$ 3 causes cardiomyocyte apoptosis and cardiomyopathy. *Cell Death Dis.* **5** e1215 (2014)
2. Fukami, K., and Nakamura, Y. The role of phospholipase C isozymes in cellular homeostasis. *Phospholipases in Health and Disease* **10**, 201-210 (2014).
3. Kanemaru, K., Nakamura Y.\*, Sato, K., Kojima, R., Takahashi, S., Yamaguchi, M., Ichinohe, M., Kiyonari, H., Shioi, G., Kabashima, K., Nakahigashi, K., Asargiri, M., Jamora, C., Yamaguchi, H., and Fukami, K. Epidermal phospholipase C $\delta$ 1 regulates granulocyte counts and systemic interleukin-17 levels in mice. *Nat. Commun.* **3**, 963 (2012).  
\* 1<sup>st</sup> authors and corresponding authors.
4. Staats, KA., Van, H. L., Jones, A. R., Bento, A. A., Van, H. A., Shatunov, A., Simpson, C.L., Lemmens, R., Jaspers, T., Fukami, K., Nakamura, Y., Brown, RH. Jr, Van, D. P., Liston, A., Robberecht, W., Al-Chalabi, A., and Van, D. B.L. Genetic ablation of phospholipase C delta 1 increases survival in SOD1(G93A) mice. *Neurobiol. Dis.* **60**,11-7 (2013).
5. Nakamura, Y., Kanemaru, K., and

Fukami, K. Physiological functions of phospholipase C $\delta$ 1 and phospholipase. C $\delta$ 3. *Adv. Biol. Regul.* **53**. 356-62 (2013).

[学会発表](計 20 件)

1. Ogura, T., Kanemaru, K., Nakamura, Y., and Fukami, K. Phospholipase C $\delta$ 1 Regulates Keratinocyte Proliferation and differentiation, The 8<sup>th</sup> Japan-Korea Conference on Cellular Signaling for Young Scientists, 2013/11, Fukuoka
2. 深見希代子、金丸佳織、中村由和. 酸性リン脂質代謝酵素ホスホリパーゼC (PLC)  $\delta$ 1 と $\delta$ 3 の生理機能解析、第 8 6 回日本生化学会大会、2013/9、横浜
3. 中村由和、金丸佳織、深見希代子. 細胞膜リン脂質代謝酵素ホスホリパーゼ C $\delta$ 1 によるケラチノサイトの増殖、分化制御と表皮バリア形成、第 8 6 回日本生化学会大会、2013/9、横
4. Kanemaru, K., Nakamura, Y., and Fukami, K. Epidermal phospholipase C $\delta$ 1 regulates systemic interleukin-17 levels and granulocyte counts in mice、第 86 回日本生化学会大会、2013/9、横浜
5. 岡臨、小倉崇寛、金丸佳織、中村由和、深見希代子.ホスホリパーゼ C $\delta$ 1 はケラチノサイトの増殖・分化を制御する、第 8 6 回日本生化学会大会、2013/9、横浜
6. 新屋有希、金丸佳織、中村由和、深見希代子. イノシトールリン脂質代謝酵素と皮膚疾患の関連についての検討、第 86 回日本生化学会大会、2013/9、横浜
7. 松雪綾乃、金丸佳織、中村由和、深見希代子. 肥満合併による乾癬悪化を

- 再現するマウスモデルの確立、第 8 6 回日本生化学会大会、2013/9、横浜
8. 小倉崇寛、金丸佳織、中村由和、深見希代子 ホスホリパーゼ C $\delta$ 1 はケラチノサイトの増殖・分化を制御する、第 55 回脂質生化学会、2013/6、松島
  9. 金丸佳織、中村由和、深見希代子. ホスホリパーゼ C $\delta$ 1 の欠損は炎症性皮膚疾患を誘導する、第 55 回脂質生化学会、2013/6、松島
  10. Kanemaru, K., Nakamura, Y., and Fukami, K. Loss of phospholipase C $\delta$ 1 impairs epidermal barrier and induces chronic dermatitis. *International Investigative Dermatology*, 2013/5, Edinburgh
  11. Nakamura, Y., Kanemaru, K., and Fukami, K. Keratinocyte-specific loss of Phospholipase C $\delta$ 1 results in aberrant activation of IL-23/IL-17 axis and skin inflammation. *International Investigative Dermatology*, 2013/5, Edinburgh
  12. Nakamura, Y., Kanemaru, K., Kabashima, K., Nakahigashi, K., and Fukami, K. Phospholipase C  $\delta$ 1 is required for normal expression of profilaggrin in keratinocytes, 第 37 回日本研究皮膚科学会、2012/12、沖縄
  13. Kanemaru, K., Nakamura Y., Kabashima, K., Nakahigashi, K., and Fukami, K. Epidermal phospholipase C $\delta$ 1 regulates systemic interleukin-17 levels and granulocyte counts in mice, 第 37 回日本研究皮膚科学会、2012/12、沖縄
  14. 中村 由和、金丸 佳織、深見 希代子. Phospholipase C $\delta$ 1 は表皮角化細胞におけるプロフィラグリンの正常な発現に必須である、第 85 回日本生化学会大会、2012/12、福岡
  15. 金丸 佳織、中村 由和、深見 希代子. 表皮におけるホスホリパーゼ C $\delta$ 1 の欠損は血清中の IL-17 濃度を上昇させ顆粒球増多を引き起こす、第 85 回日本生化学会大会、2012/12、福岡
  16. 山口 眞美、金丸 佳織、中村 由和、深見 希代子. ホスホリパーゼ C $\delta$ 1 欠損マウスはペントバルビタール麻酔に対する感受性が低下する、第 8 5 回日本生化学会大会、2012/12、福岡
  17. Kanemaru, K., Nakamura, Y., and Fukami, K. Loss of epidermal phospholipase C  $\delta$ 1 results in IL-23/IL-17 axis activation and granulocytosis, 42<sup>nd</sup> Annual European Society for Dermatological Research Meeting 2012/9, Venice, ITALY
  18. 橋本悠希、児島亮太、中村由和、深見希代子. ホスホリパーゼ C $\delta$ 1 と $\delta$ 3 は正常な心機能の維持に重要である、第 54 回日本脂質生化学会、2012/6、福岡
  19. 金丸佳織、中村由和、椋島健治、深見希代子. 表皮特異的な PLC $\delta$ 1 の欠損は乾癬様皮膚炎を引き起こす、第 54 回日本脂質生化学会、2012/6、福岡
  20. 中村由和、金丸佳織、椋島健治、深見希代子. ホスホリパーゼ C $\delta$ 1 はアトピー性皮膚炎発症因子フィラグリンの発現を制御する、第 54 回日本脂質生化学会、2012/6、福岡
- 〔図書〕(計 0 件)
- 〔産業財産権〕  
出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

<http://logos.ls.toyaku.ac.jp/~genome/Site/pages/main.html>

6. 研究組織

(1)研究代表者

中村 由和 (NAKAMURA YOSHIKAZU)

東京薬科大学・生命科学部・講師

研究者番号:

60366416